

Российская академия наук
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
Общество физиологов растений России
Научный совет по физиологии растений и фотосинтезу
РАН

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
СОВРЕМЕННОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
БИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**

Всероссийская научная конференция с
международным участием и школа для молодых
ученых,
посвященная 125-летию Института физиологии
растений им. К.А. Тимирязева РАН

Москва, 23-27 ноября 2015 г.

Сборник материалов

**Москва
2015**

Баланс железа в плотной культуре диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J. C. Lewin

Железнова С.Н., Геворгиз Р.Г., Бобко Н.И., Нехорошев М.В.

Институт морских биологических исследований, г.Севастополь, Россия

Диатомовые водоросли служат источником целого ряда биологически активных веществ, в том числе и антиоксидантов. Они широко распространены в природе и образуют колоссальные количества органического вещества, а также способны поглощать и накапливать многие макро и микроэлементы, в том числе и железо. Железо играет важную роль в процессах роста и развития диатомовых водорослей. Неорганические соединения железа способны катализировать многие биохимические реакции, а в соединении с органическими веществами каталитические свойства железа возрастают во много раз [1]. Каталитическое действие железа связана с его способностью менять степень окисления, поэтому железо принимает активное участие в транспорте электронов в биохимических процессах фотосинтеза и дыхания [2].

Железо входит в состав многих ферментов и белков, а также, как известно, железо в неорганической форме Fe_2O_3 входит в состав панциря диатомовых водорослей. В панцире, состоящего в основном из кремнезема, содержится около 3 % железа от общего его содержания в клетке [3].

Железо также влияет на процессы поглощения нитратов и нитритов, участвует в процессах фотосинтеза, биосинтеза хлорофиллов и в других жизненно важных биологических процессах, происходящих внутри клетки [2].

Известно, что, выращивая микроводоросли в лабораторных условиях, можно управлять и контролировать процессы происходящие внутри клетки, кроме того, можно управлять биосинтезом микроводорослей, создавая биомассу с определенным биохимическим составом.

В литературе отмечено, что при добавлении железа в питательную среду увеличивается скорость поглощения нитратов. Поэтому для создания оптимальных условий по накоплению железа в биомассе микроводорослей необходимо исключить лимитирование роста азотом. Также накопление железа зависит от доступности железа в питательной среде. Неорганическая форма железа должна быть хорошо растворима в питательной среде и образовывать комплексы с лигандами, так как именно органические лиганды играют важную роль при поглощении железа [2].

Перенос железа из питательной среды в клетку микроводоросли осуществляет специфический белок – фитотрасферин (см. рис.1). Фитотрансферин постоянно находится в химическом равновесии с ионами железа, находящимися в среде [4]. Опытным путем доказано, что диатомовые водоросли требуют больше железа, чем других классов, и реагируют более резко на его добавление [2].

Среди всех диатомовых водорослей, обладающих способностью активно поглощать и накапливать железо, можно выделить бентосную морскую диатомею *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J.C.Lewin. Данная водоросль способна накапливать железо как в органической, так и в неорганической форме.

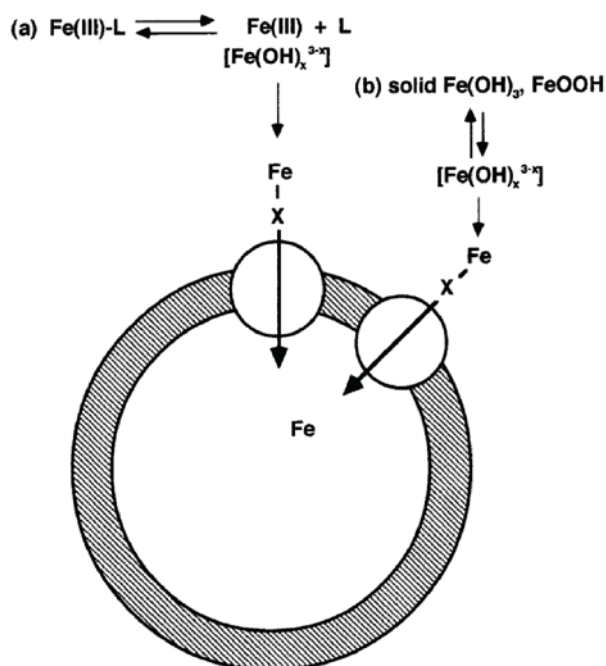


Рис.1 Модель поглощения железа клетками микроводорослей (Kuma et al., 1999).

Цель нашей работы – исследование баланса железа в плотной культуре *C. closterium*, определении доли органического и неорганического железа в биомассе *C. closterium*, а также установление потребности в железе морской диатомеи *C. closterium*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали диатомовую водоросль *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin из коллекции культур микроводорослей отдела экологической физиологии водорослей ИМБИ им. А.О. Ковалевского РАН. Культуру адаптировали к эксперименту, выращивая ее на питательной среде с содержанием сульфата железа 65 мг/л при освещенности 13,25 клк.

В эксперименте культуру *C. closterium* выращивали на питательной среде с концентрацией сульфата железа 6,5 мг /л, при постоянной температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$ в режиме накопительного культивирования в фотобиореакторах плоскопараллельного типа с рабочим объемом 2 л, слоем 5 см, при круглосуточном освещении лампами ЛБ-40 (средняя освещённость рабочей поверхности – 13,25 клк). В процессе выращивания культуру барботировали воздухом посредством компрессорной установки. Эксперименты проводили при pH = 8 – 9.

Измерения содержания железа в биомассе *C. closterium* проводили каждые 24 часа в течении всего периода эксперимента. При выходе культуры в стационарную фазу роста содержание железа определяли не только в биомассе, но в белках и в створках *C. closterium* для получения баланса по железу.

Содержание железа в биомассе, в белках и в створках *C. closterium* определяли после сжигания проб в муфельной печи при температуре 195°C с добавлением

серной кислоты и йодата калия. В данных пробах железо определяли стандартным калориметрическим методом с применением сульфосалициловой кислоты.

Для выделения белковой фракции из биомассы *C. closterium* использовали стандартную методику осаждения белков из щелочного гидролизата с помощью сульфата аммония. Щелочной гидролизат биомассы получали стандартным способом.

Для получения створок *C. closterium*, очищенных от органического вещества, использовали гипохлорит натрия. Отбирали аликвоту из фитобиореактора по 10 мл, отделяли биомассу от культуральной среды центрифугированием при 3000 об/с, к сырой массе *C. closterium* добавляли концентрированный гипохлорит натрия и выдерживали в течении 48 часов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

По результатам проведенного эксперимента максимальное содержание железа в биомассе *C. closterium* составляет 45 г/кг сухой массы. Минимальное значение содержания железа составляет 2 г/кг. Следовательно, чтобы избежать лимитирования роста *C. closterium* необходимо использовать питательные среды с концентрацией железа более 5 мг/л.

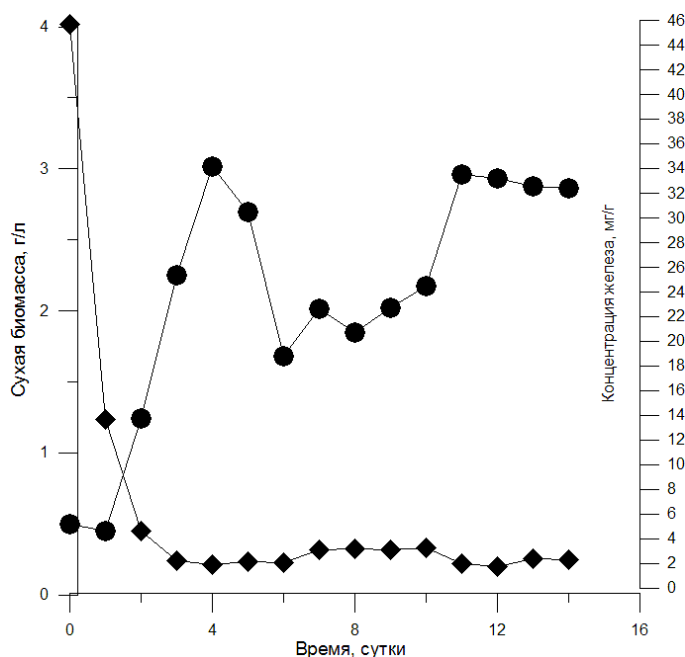


Рис. 2. Плотность культуры диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* и концентрация железа в биомассе микроводоросли при ее культивировании при малых концентрациях сульфата железа в питательной среде (6.5 мг/л).

Составлен баланс железа для культуры *C. closterium* при малых концентрациях железа в питательной среде. Определено содержание железа в биомассе и в створках культуры *C. closterium*, а также концентрация железа в белковой и в липидной фракциях. При переходе культуры в стационарную фазу роста, выращенной при малых концентрациях железа в питательной среде железа, содержание общего железа в биомассе достигло 11,6–11,9 мг/г сухой массы. При этом концентрация

железа в белковой фракции культуры достигает 3,4 – 3,6 мг / г сухой биомассы. Таким образом, при малых концентрациях железа в питательной среде в белковой фракции содержится 47 % железа от общего его содержания в биомассе. В липидах присутствие железа не обнаружено. Следовательно, основная часть органического железа содержится только в белковой фракции.

Концентрация железа в створках культуры в данных условиях достигает 5,8 – 6 мг/г сухой биомассы. Таким образом, по нашим данным створки могут содержать 50 % железа от общего его содержания

Створки, как известно, содержат железо только в неорганической форме. Из данных, полученных в результате эксперимента, можно предположить, что в створках находится основная доля неорганического железа.

Вывод: культура *C. closterium* содержит 47% органического железа и 51 % неорганического железа от общего его содержания в биомассе, что может представлять особую ценность для пищевой и медицинской промышленности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Медведев С. С. Физиология растений / СПб.: Изд – во С. – Петерб. ун – та, 2004. – 336 с.
2. Kuma K., Tanaka J., Matsunaga K. Effect of natural and synthetic organic-Fe (III) complexes in an estuarine mixing model on iron uptake and growth of a coastal marine diatom, *Chaetoceros sociale* // Mar. Biol. – 1999.- 134, P. 761-769.
3. Leblanc K., Hare C. E., Boyd P. W., Bruland K. W., Sohst B., Pickmere S., Lohan M. C., Buck K. N., Ellwood M. J., Hutchins D. A. Fe and Zn effects on the Si cycle and diatom community structure in two contrasting high- and low-silicate HNLC areas // Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.- 2005. - 52, P. 1842–1864.
4. Anderson M.A., Morel F.M.M. The influence of aqueous iron chemistry on the uptake of iron by the coastal diatom *Thalassiosira weissflogii* // Limnol. Oceanogr. – 1982. - 27, P. 789 – 813.